

## 土壤汞 (S-Hg) 浓度检测试剂盒说明书

微量法 100T/96S

**注 意：**正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

### 测定意义：

土壤汞污染能够通过食物链传递和富集，对植物、动物和人类健康产生威胁。矿山开发、工业加工、农业生产和生活垃圾常常造成土壤汞污染，因此评价和防止土壤重金属污染常常需要测定土壤汞含量。

### 测定原理：

土壤经消化后，汞以  $Hg^{2+}$  离子形式存在； $Hg^{2+}$  能与二硫脲生成橙色络合物，溶于三氯甲烷后，在 490nm 测定吸光度，即可计算 S-Hg 含量。

### 自备仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、恒温水浴锅、可调式移液枪、100 目筛（可更小）、浓硫酸、浓盐酸、浓硝酸、三氯甲烷和蒸馏水。

### 试剂组成和配制：

标准品：液体×1 支，4nmol/mL Hg 标准液，4°C 保存。

试剂一：自备。在该试剂瓶中加入 52mL 蒸馏水，36 mL 浓盐酸，12mL 浓硝酸，混匀，4°C 避光保存。

试剂二：粉剂×1 瓶，4°C 避光保存。临用前加 18.4 mL 蒸馏水充分溶解。

试剂三：粉剂×1 瓶，4°C 保存。临用前加 3 mL 蒸馏水充分溶解。

试剂四：粉剂×1 支，4°C 保存。临用前加 1.5 mL 蒸馏水充分溶解。

试剂五：粉剂×1 瓶，4°C 保存。临用前加 5.2 mL 蒸馏水充分溶解。

试剂六：粉剂×1 瓶，4°C 避光保存。临用前加 20 mL 三氯甲烷充分溶解。

### S-Hg 检测：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30 min，体积波长到 490 nm，三氯甲烷调零。
2. **样品管：**风干的土壤，过 100 目筛后精确称取 0.1 g 左右，装入 EP 管；加入 1 mL 试剂一，充分混匀后沸水浴消化 60 min。取出冷却后室温 8000g 离心 10min，吸取 20  $\mu$ L 上清液加入新的 EP 管；再先后加入 180  $\mu$ L 蒸馏水和 20  $\mu$ L 浓硫酸，混匀；最后加入 180  $\mu$ L 试剂二，混匀后 40°C 水浴 24h，期间震荡数次。
2. **标准管：**取 EP 管，加入 20  $\mu$ L 标准液，180  $\mu$ L 蒸馏水和 20  $\mu$ L 浓硫酸，混匀；最后加入 180  $\mu$ L 试剂二，混匀后 40°C 水浴 24h，期间震荡数次。
3. 加入 20  $\mu$ L 试剂三，震荡直到无色；开盖静置 30min，期间摇荡数次，以排出气体。
4. 加入 10  $\mu$ L 试剂四，充分混匀后静置 5min；加入 50 $\mu$ L 试剂五，盖紧后震荡至少 1min，静置 10min 以分层。
5. 小心吸取 20  $\mu$ L 下层溶液，加入 200  $\mu$ L 试剂六，震荡使无色，静置 10 min 以分层。
6. 小心吸取 140  $\mu$ L 下层溶液，加入微量玻璃比色皿/96 孔板，于 490nm 处比色，记录各管吸光值。记为 A 样品管和 A 标准管。

**注意：**标准管只需测定一次。

**S-Hg 浓度计算公式:**

a. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

$$\text{Hg (nmol Hg/g 干重)} = [\text{C 标} \times (\text{A 测定管} \div \text{A 标准管})] \times \text{V 总} \div \text{V 样} \div \text{W} \\ = 200 \times (\text{A 测定管} \div \text{A 标准管}) \div \text{W}$$

C 标: 标准液浓度, 4 nmol/mL Hg; V 总: 上清液总体积, 1 mL; W: 土样质量, g; V 样: 加入上清液体积, 20  $\mu\text{L}$ =0.02 mL。

b. 使用 96 孔板测定的计算公式如下

$$\text{Hg (nmol Hg/g 干重)} = [\text{C 标} \times (\text{A 测定管} \div \text{A 标准管})] \times \text{V 总} \div \text{V 样} \div \text{W} \\ = 200 \times (\text{A 测定管} \div \text{A 标准管}) \div \text{W}$$

C 标: 标准液浓度, 4 nmol/mL Hg; V 总: 上清液总体积, 1 mL; W: 土样质量, g; V 样: 加入上清液体积, 20  $\mu\text{L}$ =0.02 mL。

**注意事项:**

- 1、试剂一有刺激性气味, 易挥发, 实验过程中应注意佩戴口罩和手套, 使用完立即盖好盖子, 以免试剂不够;
- 2、测定过程中需加入浓硫酸, 加浓硫酸时需注意, 避免溅到皮肤或眼睛上;
- 3、静置分层后, 用 1mL 移液枪, 排除空气后, 轻轻插入下层溶液中, 缓慢吸取下层溶液。